БОЛЕЗНИ КРОЛИКОВ

УДК 619:616.98:579.843.95:636.92:615.371

А.В. Потехин, Ф.А. Ширяев, О.В. Бородина

ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА КРОЛИКОВ

Введение

Кролиководство является важной отраслью животноводства, поставляющей на рынок ценное диетическое мясо и сырье для меховых изделий. Помимо этого, кроликов используют в качестве лабораторной модели при изучении различных вопросов медицины и ветеринарии.

Пастереллез – опасное инфекционное заболевание кроликов, которое наряду с вирусной геморрагической болезнью кроликов, миксоматозом и кокцидиозом наносит огромный экономический ущерб кролиководческим хозяйствам.

Антигенная структура пастерелл сложна и разнообразна [3, 6, 9]. По современной классификации представители вида *P. multocida* подразделяются на 5 капсульных серогрупп (A, B, D, E и F) и 16 сервариантов по соматическому антигену [5, 8]. У кроликов заболевание вызывают пастереллы серогрупп A, B и D по капсульному антигену.

Пастереллез кроликов характеризуется многообразием форм течения и проявления заболевания. Контагиозный ринит, конъюнктивит, отит, абсцессы, острая фибринозная и хроническая бронхопневмония, а также септицемия – все это формы одного заболевания, вызванного *P. multocida* [4, 6, 10]. Наиболее часто при остром течении от животных изолируют бактерии различных сероваров, относящихся к серогруппе А, а при хронических процессах возможно выделение пастерелл серогрупп А и D в ассоциации [7, 10, 11].

Основным звеном в системе мер борьбы с этим заболеванием является специфическая профилактика [1, 4]. При этом для создания эффективных вакцин против пастереллеза кроликов необходимо учитывать антигенные и иммуногенные свойства используемых производственных штаммов *P. multocida*.

Целью настоящих исследований было создание бивалентной вакцины против пастереллеза кроликов из антигенов пастерелл серогруппы А (серовары 1 и 3) и оценка ее иммунобиологических свойств.

Материалы и методы

Бактериальные штаммы. В работе использовали два штамма *P. multocida* – №115 (серовар А:1) и №1231 (серовар А:3), полученные из музея бактериальных культур ФГУ «ВГНКИ» [2]. Оба штамма являются вирулентными, значение LD_{50} для белых мышей составляет 15±5 колониеобразующих единиц (КОЕ).

Подопытные животные. Исследования проводили на 40 кроликах массой 1,5-2,0 кг, которые предварительно были протестированы на возможное пастереллоносительство путем исследования сывороток крови и назальных смывов.

Вакцины. Микробную массу получали путем выращивания пастерелл на кровяном агаре при температуре 37° С в течение 18 часов. Выросшую культуру смывали фосфатно-буферным раствором с pH 7,4. Для инактивации бактерий использовали формалин в конечной концентрации 0,2%. Моновакцины готови-

ли путем смешивания соответствующего антигена с масляным адъювантом Montanide ISA-70 в соотношении 30:70 по весу и эмульгировали в гомогенизаторе Silverson 450 LS при температуре 10° С в течение 10 мин. Для создания бивалентной вакцины антигены пастерелл двух сероваров смешивали в равной пропорции. Полученную смесь объединяли с масляным адъювантом и эмульгировали. Концентрация каждого антигена в составе моно- и бивалентной вакцины составляла 2х10^9 м.к./см^3. Стерильность препаратов подтверждали высевом на питательные среды, а безвредность вакцин оценивали на белых мышах.

Серологические исследования. Сыворотки крови вакцинированных животных исследовали через 3 недели после первой и через 3 недели после второй вакцинации. Для определения наличия противопастереллезных антител использовали реакцию преципитации (РП) в агаровом геле, которую выполняли по методике К. Хеддлестоуна [3].

Клинические, патологоанатомические и бактериологические исследования. За клиническим состоянием кроликов наблюдали в течение 21 суток после заражения. Павших и вынужденно убитых животных вскрывали. Параллельно проводили бактериологическое исследование патологического материала с целью подтверждения специфичности заболевания. Для выделения пастерелл делали высевы из легких, печени, селезенки, средостенных и бронхиальных лимфатических узлов, крови из сердца, экссудата из грудной полости на кровяной агар. Посевы инкубировали при 37° С в течение 24-48 часов.

Патологогистологические исследования. Пробы легких, костальной и легочной плевры фиксировали в 10%-м нейтральном растворе формалина в течение 3 суток. После этого материал промывали водой и заливали расплавленным парафином. Гистологические срезы готовили на ротационном микротоме и окрашивали гематоксилин-эозином.

Ход эксперимента. Вакцины вводили подкожно в область бедра в дозе 0,5 см^3 двукратно с интервалом 3 недели. В каждой группе использовали по 10 кроликов. Через 3 недели после второй вакцинации всех иммунизированных и контрольных животных разделили на подгруппы, по 5 кроликов в каждой, и заразили интраназально соответствующими штаммами пастерелл в дозе 0,5 см^3 с концентрацией 4х10^9 КОЕ/см^3.

Результаты исследований

Бактериологический анализ назальных смывов от кроликов, проведенный до начала экспериментов, показал отрицательные результаты. Животные, взятые в опыт, не имели специфических антител к возбудителю пастереллеза. Испытуемые образцы моно- и бивалентной вакцин были безвредны для животных и не обладали пирогенными свойствами.

В табл. 1 представлены результаты серологических исследований сывороток крови кроликов на наличие специфических антител к соматическим антигенам *P. multocida* (сероварЫ А:1 и А:3). Через 3 недели после первой вакцинации положительную реакцию преципитации наблюдали с сыворотками крови от большинства животных. Спустя 21 день после второй вакцинации все кролики были серопозитивными. Следует отметить, что сыворотки крови животных, иммунизированных моновакцинами, давали положительную реакцию преципитации только с гомологичными антигенами.

После применения бивалентной вакцины антитела обнаруживали к антигенам обоих штаммов.

Результаты, представленные в табл. 2, показывают, что все кролики контрольной группы пали после заражения. Животные, иммунизированные противопастереллезными моновакцинами, были защищены только при заражении гомологичным штаммом. При инфицировании гетерологичным штаммом кролики заболевали и погибали. Гибель животных наступала через 6-8 дней после заражения.

При патологоанатомическом исследовании павших кроликов основные изменения обнаруживали в респираторном тракте. Лёгкие были увеличены, тёмно-красного цвета, с очагами плотной консистенции. Лёгочная и париетальная плевры, а также сердечная сумка были покрыты нитями фибрина, приводящими в некоторых случаях к слипанию органов. Пленки и нити фибрина находили в экссудате плевральной полости у всех павших животных. Просвет трахеи был заполнен слизью и кровяными сгустками.

При патологоанатомическом исследовании вынужденно убитых животных обнаруживали незначительные изменения в органах респираторного тракта.

Таблица 1

Антигенные свойства вакцин против пастереллеза кроликов

Штаммы *P. multocida* в составе вакцин	О-антигены сероваров пастерелл в реакции преципитации					
	1	3	1	3	1	3
	до вакцинации		через 3 недели после первой вакцинации		через 3 недели после второй вакцинации	
№115	0*	0	7	1	10	1
№1231	0	0	0	5	2	10
№№ 115, 1231	0	0	10	10	10	10
Контроль	0	0	0	0	0	0

* – количество положительно реагирующих животных

Таблица 2

Иммуногенные свойства вакцин против пастереллёза кроликов

Штаммы пастерелл в составе вакцины	Контрольное заражение штаммом P. multocida			
	№115	% гибели	№1231	% гибели
№115	0*	0	4	80
№ 1231	5	100	0	0
№115 и №1231	0	0	1	20
Контроль	5	100	5	100

* – количество павших животных

Небольшие очаги ярко-красного цвета находили только в верхушечных и сердечной долях легких.

При гистопатологическом исследовании поражённых участков лёгких от павших кроликов обнаруживали стёртую везикулярную структуру с сопутствующим интерстициальным воспалением. На всём протяжении стёртой альвеолярной структуры находили клеточный инфильтрат, состоящий из нейтрофилов. В каждом препарате лёгких обнаруживали закупорку кровеносных сосудов. Кроме того, часто наблюдали локальные и диффузные некрозы. Густая слизь вызывала закупорку трахеи и сопутствовала экстравазации. Десквамированный эпителий слизистой оболочки вместе с эритроцитами и нейтрофилами часто находили в просвете трахеи.

У вынужденно убитых кроликов после заражения в лёгких находили незначительное количество серозного экссудата внутри альвеол. Кроме того, наблюдали повышение иммунной активности, которая проявлялась интенсивным инфильтратом лимфоидных клеток вокруг бронхов и бронхиол, а также в трахеальной слизи; в некоторых случаях инфильтрат был крайне интенсивным. Стертую везикулярную структуру лёгких и умеренное количество трахеальной слизи наблюдали как результат альтеративного воспаления.

С помощью бактериологических исследований из органов всех павших кроликов выделяли исходные штаммы *P. multocida*. От вынужденно убитых иммунизированных животных возбудителя удалось изолировать только из смывов носовой полости.

Выводы

1. Моно- и бивалентная вакцины против пастереллеза кроликов обеспечивают защиту животных только от заражения гомологичными в серологическом отношении штаммами пастерелл.

2. Использование в составе бивалентной вакцины двух сероавариантов *P. multocida*, наиболее часто изолируемых от кроликов, повышает ее профилактическую эффективность.

РЕЗЮМЕ

Представлены результаты изучения иммунобиологических свойств моно- и бивалентной вакцин против пастереллеза кроликов, приготовленных из инактивированных формалином бактерий Pasteurella multocida (серовары А:1 и А:3). Сыворотки крови животных, иммунизированных моновакцинами, давали положительную реакцию преципитации только с гомологичными антигенами. Животные, иммунизированные противопастереллезными моновакцинами, были защищены только при заражении гомологичным штаммом. Использование двух, наиболее часто изолируемых от кроликов, различных сероавариантов P. multocida в составе бивалентной вакцины повышает её профилактическую эффективность.

SUMMARY

The paper presents results of studying immunobiological properties of mono- and bivalent vaccines against rabbit pasteurellosis produced from formalin-inactivated bacteria Pasturella multocida (serovars A:1 and A:3). Blood sera obtained from animals, immunized by monovalent vaccines, were positive in the precipitation test only with homologous antigens. Animals, immunized by monovalent vaccines against pasteurellosis, were protected only if a homologous strain was used for inoculation. Two different serovariants of P. multocida commonly isolated from rabbits increase the preventive efficiency of the bivalent vaccine if they are used in its composition.

Литература

1. Заерко, В.И. Разработка и внедрение универсальной технологии изготовления, контроля и применения вакцин против пастереллеза животных: дис. в форме науч. докл… д-ра вет.наук / Заерко В.И. М., 2000. С. 35.
2. Ручнова, О.И. Определение антигенного родства изолятов Pasteurella multocida, выделенных на территории Российской Федерации / О.И. Ручнова, О.В. Прунтова // Вет. патология. 2006. №4 (19). С. 113-115.
3. Brogden, K.A. Comparison of Pasteurella multocida serotyping sistems / K. A. Brogden, R. A. Packer // Am. J. Vet. Res. 1979. Vol. 40, №9. P. 1332-1335.
4. Carter, G.R. The preparation and use of vaccines for the prevention of pasteurellosis / G. R. Carter // Can. Vet. J. 1961. N 2. P. 96.
5. Heddleston, K.L. Fowl cholera: gel diffusion precipitin test for serotyping Pasteurella multocida from a viam species / K. L. Heddleston, J. E. Galanter, P. A. Rebers // Avian Dis. 1972. Vol.16. P.925-935.
6. Killian, N. Haemophilus, Pasteurella and Actinobacillus / N. Killian. London: Acad. Press, 1981. P. 293.
7. Percy, D.H. Experimental pneumonia in rabbits inoculated with strains of P. multocida / D. H. Percy, J. L. Bhasin, S. Rosendal // Can. J. Vet. Res. 1986. Vol. 50, №1. P. 36-41.
8. Rimler, R.B. Lipopolisacharides of the Heddleston serotypes of Pasteurella multocida / R. B. Rimler, P. A. Rebers, M. Phillips // Am. J. Vet. Res. 1984. Vol. 45. P. 759-763.
9. Rimler, R.B. Pasteurella multocida isolated from rabbit and swine: serologic types and toxin production / R. B. Rimler, K. A. Brogden // Am. J. Vet. Res. 1986. Vol. 47. P. 730-737.
10. Rimler, R.B. Pasteurella and pasteurellosis / R. B. Rimler, K. R. Rhoades. London: Acad. Press, 1989. P. 37-73.
11. Sokkar, S.M. Pathogenesis of P. multocida in experimentally infected rabbits / S. M. Sokkar, M. A. Mohamed, H. Fetaih // Arch. Exp. Vet. Med. 1987. Bd. 41, № 4. S. 516-521.

УДК 619:616.98:579.843.95:615.91

А.В. Потехин, Ф.А. Ширяев, О.В. Бородина

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ АДЪЮВАНТОВ В СОСТАВЕ ВАКЦИН ПРОТИВ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА КРОЛИКОВ

Введение

Пастереллез, наряду с вирусной геморрагической болезнью, миксоматозом и кокцидиозом, является опасным инфекционным заболеванием кроликов, наносящим существенный экономический ущерб коммерческим кролиководческим хозяйствам, а также питомникам и вивариям, занимающимися разведением и выращиванием животных для научных исследований. Заболевание характеризуется широким распространением бактерионосительства, поэтому инфекция может возникать в хозяйстве и без заноса возбудителя извне (эндогенный пастереллез) [1, 9, 10].

Пастереллез кроликов вызывают бактерии *P. multocida* серогрупп А, В и D, при этом течение и исход заболевания во многом зависят от вирулентности возбудителя. Причиной сверхострой (септической) формы пастереллеза в основном являются пастереллы серогруппы В, однако данная форма заболевания не имеет широкого распространения. Наиболее часто при остром течении заболевания от животных изолируют бактерии серогруппы А, а при хронических процессах возможно выделение пастерелл серогрупп А и D в ассоциации [7, 9, 10, 11].

Основными звеньями в системе мер борьбы с пастереллезом кроликов являются: устранение из стада пастереллоносителей и вакцинация здоровых животных.

Для специфической профилактики пастереллеза кроликов широко используют инактивированные вакцины, приготовленные из убитых бактерий, но наряду с этим имеются и живые вакцины на основе аттенуированных стрептомицин-зависимых штаммов *P. multocida*. Для усиления иммуногенности инактивированных вакцин используют адъюванты [1, 4].

По данным Департамента ветеринарии МСХ РФ пастереллез кроликов наиболее